

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

[Claim(s)]

- http://www4.indi.ncipi.go.jp/cgi-bin/tran_wer_cgi_ejje?v=http%3A%2F%2Fwww4.in... 7/27/2006

22. The approach according to claim 21 said thrombin inhibitor is GATORAN.
23. The approach according to claim 22 said thrombin inhibitor is INOGA tolan or MERAGA tolan.
24. The approach according to claim 23 said thrombin inhibitor is MERAGA tolan.
25. The approach according to claim 20 to 24 of being claim 19 said whose polysaccharide is chitosan, or the subordination term of claim 19.
26. Use of the thrombin inhibitor to accommodation of a wound healing process in the living body.
27. Use of the thrombin inhibitor of a low-molecular-weight peptide system for preventing or reducing activation and condensation of a platelet.
28. Use according to claim 26 or 27 characterized by said thrombin inhibitor being GATORAN.
29. Use according to claim 28 said whose thrombin inhibitor is INOGA tolan or MERAGA tolan.
30. Use according to claim 29 said whose thrombin inhibitor is MERAGA tolan.
31. The physic product containing a polysaccharide and low-molecular-weight peptide system thrombin inhibitor.
32. The product according to claim 31 characterized by said thrombin inhibitor being GATORAN.
33. The product according to claim 32 characterized by said thrombin inhibitor being INOGA tolan or MERAGA tolan.
34. The product according to claim 33 characterized by said thrombin inhibitor being MERAGA tolan.
35. The product according to claim 31 to 34 characterized by said polysaccharide being chitosan.
36. A product given in either of 31 to claim 35 terms characterized by said polysaccharide being the configuration of a film, the film, or gel.
37. The product according to claim 31 to 36 characterized by pouring in said low-molecular-weight peptide system thrombin inhibitor through a polysaccharide.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2000-503318
(P2000-503318A)

(43) 公表日 平成12年3月21日 (2000.3.21)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 41/00		31/00	6 4 1
A 6 1 K 31/722		31/715	6 0 6
31/731			6 1 3
38/45		45/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 23 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平9-525917
(86) (22) 出願日 平成9年1月16日 (1997.1.16)
(85) 翻訳文提出日 平成10年7月15日 (1998.7.15)
(86) 国際出願番号 P C T / S E 9 7 / 0 0 0 5 7
(87) 国際公開番号 W O 9 7 / 2 5 9 9 4
(87) 国際公開日 平成9年7月24日 (1997.7.24)
(31) 優先権主張番号 9 6 0 0 2 1 6 - 7
(32) 優先日 平成8年1月18日 (1996.1.18)
(33) 優先権主張国 スウェーデン (S E)

(71) 出願人 ハンソン, ハンスーアルネ
スウェーデン国 エス-436 58 ホボス,
ドテヴィクスヴェーゲン 8
(72) 発明者 ハンソン, ハンスーアルネ
スウェーデン国 エス-436 58 ホボス,
ドテヴィクスヴェーゲン 8
(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治癒過程の調節

(57) 【要約】

生体内での創傷の治癒過程を調節する際に使用する製品を製造するためのトロンビン阻害物質の使用が提供され、特に、フィブリン関連の癒着および/または癒痕組織の形成の防止または阻害、ならびに、多糖（たとえば、キトサン）および低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質を含有する、生体での創傷治癒過程調節用の製品が提供される。

【特許請求の範囲】

1. 生体内での創傷の治癒過程を調節する際に使用する製品を製造するためのトロンビン阻害物質の使用。
2. フィブリン関連の癒着を防止または阻害する際に使用する製品を製造するためのトロンビン阻害物質の使用。
3. 癒痕組織の形成を防止または阻害する際に使用する製品を製造するためのトロンビン阻害物質の使用。
4. 前記製品が、多糖をさらに含有していることを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載の使用。
5. 前記トロンビン阻害物質が、ヒルジンまたはヒルジンの断片であることを特徴とする請求項 1～4 のいずれかに記載の使用。
6. 前記トロンビン阻害物質が、低分子量ペプチド系のトロンビン阻害物質であることを特徴とする請求項 1～5 のいずれかに記載の使用。
7. 前記トロンビン阻害物質がガトランであることを特徴とする請求項 6 に記載の使用。
8. 前記トロンビン阻害物質がイノガトランまたはメラガトランであることを特徴とする請求項 7 に記載の使用。
9. 前記トロンビン阻害物質がメラガトランであることを特徴とする請求項 8 に記載の使用。
10. 前記製品が、繊維素溶解性物質をさらに含有していることを特徴とする請求項 1～9 のいずれかに記載の使用。
11. 前記トロンビン阻害物質のかわりに繊維素溶解性物質を使用することを特徴とする請求項 1～4 のいずれかに記載の使用。
12. 前記繊維素溶解性物質が、プラスミノゲンアクチベーター、ストレプトキナーゼまたはウロキナーゼであることを特徴とする請求項 10 または 11 に記載の使用。
13. 前記多糖が、任意の寸法のフィルム、膜、ゲル、溶液、糸、棒またはチューブの形状で製造されることを特徴とする、請求項 4、または請求項 4 の従属項

である請求項 5～12 のいずれかに記載の使用。

14. 前記多糖が、フィルム、膜またはゲルの形状で製造されることを特徴とする請求項 13 に記載の使用。

15. 前記多糖がキトサンであることを特徴とする、請求項 4、請求項 4 の従属項である請求項 5～12 または請求項 13 もしくは 14 のいずれかに記載の使用。

16. 創傷治癒過程の調節を必要としている患者へのトロンビン阻害物質の投与を行うことを含む、生体内での創傷治癒過程を調節する方法。

17. フィブリン関連の癒着の防止または阻害を必要としている患者へのトロンビン阻害物質の投与を行うことを含む、フィブリン関連の癒着を防止または阻害する方法。

18. 瘢痕組織形成の防止または阻害を必要としている患者へのトロンビン阻害物質の投与を行うことを含む、瘢痕組織形成を防止または阻害する方法。

19. 多糖およびトロンビン阻害物質の同時投与を行うことをさらに含む、請求項 16～18 のいずれかに記載の方法。

20. 前記トロンビン阻害物質が、ヒルジンまたはヒルジンの断片である請求項 16～19 のいずれかに記載の方法。

21. 前記トロンビン阻害物質が、低分子量ペプチド系のトロンビン阻害物質である請求項 16～19 のいずれかに記載の方法。

22. 前記トロンビン阻害物質がガトランである請求項 21 に記載の方法。

23. 前記トロンビン阻害物質がイノガトランまたはメラガトランである請求項 22 に記載の方法。

24. 前記トロンビン阻害物質がメラガトランである請求項 23 に記載の方法。

25. 前記多糖がキトサンである、請求項 19、または請求項 19 の従属項である請求項 20～24 のいずれかに記載の方法。

26. 生体内での創傷治癒過程の調節へのトロンビン阻害物質の使用。

27. 血小板の活性化および凝集を防止または低減するための、低分子量ペプチド系のトロンビン阻害物質の使用。

28. 前記トロンビン阻害物質がガトランであることを特徴とする請求項26または27に記載の使用。

29. 前記トロンビン阻害物質がイノガトランまたはメラガトランである請求項28に記載の使用。

30. 前記トロンビン阻害物質がメラガトランである請求項29に記載の使用。

31. 多糖および低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質を含む医薬製品。

32. 前記トロンビン阻害物質がガトランであることを特徴とする請求項31に

記載の製品。

33. 前記トロンビン阻害物質がイノガトランまたはメラガトランであることを特徴とする請求項32に記載の製品。

34. 前記トロンビン阻害物質がメラガトランであることを特徴とする請求項33に記載の製品。

35. 前記多糖がキトサンであることを特徴とする請求項31～34のいずれかに記載の製品。

36. 前記多糖がフィルム、膜またはゲルの形状であることを特徴とする請求項31～35項のいずれかに記載の製品。

37. 前記低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質を、多糖を介して注入することを特徴とする請求項31～36のいずれかに記載の製品。

【発明の詳細な説明】

治癒過程の調節

発明の分野

本発明は、生体での創傷治癒過程を調節する際、具体的には、損傷、外科手術、火傷などの物理的外傷や炎症に起因する癒着および／または癒痕組織の形成を防止する際に用いる製品を製造するにあたっての、医薬活性を有する公知の化合物の使用に関するものであり、また、生体での創傷の治癒過程を調節する際に使用する医薬製品にも関するものである。

発明の背景

ヒト生体内で、多くの臓器が相対的に移動しうる状態にあることは、それらの臓器が最適なかたちで機能するうえで必須である。その意味で、各臓器が、隣接した臓器、および／または、その臓器が収容されている体腔に対して相対的に移動ならびに摺動しうることが重要である。たとえば、食道、胃、腸、肝臓、泌尿生殖器が、隣接臓器ならびに腹壁、横隔膜に対して少なくとも部分的にも移動可能でなかったとすれば、呼吸時の移動の制約、腹腔内各種構造の移動の制約、腸閉塞および／または不妊状態といった機能不全が生じるはずである。

臓器が損傷、外科手術、火傷、あるいは電気ショックなどの物理的外傷を被ったり、疾患性原因によって炎症を生じたりした場合、その後の治癒ならびに炎症過程の帰結として避けられないものの一つに、癒着および癒痕組織の形成があり、その際には、上述の臓器の可動性が結果的におのずと制限されることとなる。

癒着や癒痕組織は、物理的外傷および疾患性炎症の後にフィブリンー血小板網状構造が形成され、さらにこの網状構造が再形成されたり肉芽組織で置き換わったりする結果として形成されるものである。

外傷後、あるいは炎症の結果として早い段階で形成される、複雑で通常高度に不規則な構造を有するフィブリンー血小板網状構造は、あらゆる創傷の治癒過程の帰趨を決する重要な意味を有している。物理的構造、具体的にはフィラメン

トと膜は、その外郭が曖昧であっても明確であっても、侵入してくる肉芽組織を

導く役目を果たす。こうして新たに形成される組織が、上述の機序にしたがって、線維性ストランドあるいは膜として編成された癒痕組織として最終的に再構築されることになる。実際には、侵入した肉芽組織細胞が、もとの細胞と完全に置き換わることは決してなく、したがって、組織が再生することも決してなく、組織は補修されるにとどまることになる。このことは、皮膚についても、体腔表面の粘膜についても、筋肉、腱、神経などの他の構造についてもそうである。さらに、こうして形成された癒痕組織は、時間の経過とともに拘縮し、拘縮したまま残り、損傷領域の変形ならびに組織崩壊を生じる。

通常、癒着を生じるうえでは、2、3個の肉芽組織細胞（血管形成細胞を含む）が増殖し、フィブリン系に侵入するだけで十分である。血餅のフィブリン-血小板網状構造で個々のフィブリン系が有している方向、密度、編成のされ方が情報となって、侵入肉芽組織細胞ならびに特定の細胞、たとえばシュバン細胞の軌跡が決定される。細胞外フィブリンが蓄積、接着して、隣接する構造体との間に異常な連結構造を形成する場合もある。

このように、フィブリン-血小板網状構造は、侵入肉芽組織を導くうえで、したがって、癒着ならびに癒痕組織が形成されるうえで、きわめて重要な意味を有する。

従来技術

欧州特許出願 EP 0 051 354 には、多糖であるキトサンによってコーティングされたポリマー基質が記載されており、このキトサンには、抗血栓物質であるヘパリンが付加されている。

米国特許第 5,116,824 号には、N-アシルキトサンとコラーゲンを含有し、創傷を覆うのに適した複合材料が記載されている。ヘパリンは、抗血栓剤として含有させることができる。

これらの従来技術文献のいずれも、損傷または外科手術のような物理的外傷や疾患性炎症の後の癒着および／または癒痕組織の形成を防止するにあたって、当該従来技術文献に記載されたデバイスを使用することを開示していない。また

トロンビン阻害物質、特に、低分子量トロンビン阻害物質の使用は示唆されていない。

また、繊維素溶解性物質と多糖を組み合わせる使用することが、癒着および／または癒痕組織の形成を防止するうえで有用であることについても、開示も示唆もない。

発明の開示

我々は、驚くべきことに、トロンビン阻害物質が、物理的外傷または疾患性炎症後の癒着および／または癒痕組織の形成を有意に防止または阻害するものであり、そして、生体での創傷治癒過程を調節する際に使用しうるものであることを見いだした。

本発明の第1の態様では、生体での創傷の治癒過程を調節する際に使用する製品を製造するにあたってのトロンビン阻害物質の使用を提供する。

より具体的には、トロンビン阻害物質が、物理的外傷または疾患性炎症の結果としてのフィブリン関連の癒着および／または癒痕組織の形成を防止または阻害するうえで使用しうるものであることを見いだしたものである。

「フィブリン関連の癒着」とは、上述のような物理的外傷または疾患性炎症後に、フィブリン-血小板網状構造（すなわち、フィブリンと血小板を含む細胞との網状構造）が形成された結果として生じた癒着を意味するものである。

我々は、トロンビン阻害物質が、皮膚または内部臓器に対する物理的損傷、たとえば事故による損傷；外科手術、たとえば、腹腔鏡による外科手術、「開腹」をともなう通常の胃腸科、婦人科の外科手術、癌の手術、整形外科手術（たとえば、骨折の治療、補綴材の埋設、腱、筋肉、靭帯の外科手術）、神経外科手術、心臓および胸部の外科手術、あるいは外傷の外科手術、ならびにカテーテルの挿入；熱による外傷、たとえば火傷；薬品による外傷、たとえば腐食性物質、酸性物質またはアルカリ性物質との接触；ならびに電気ショックなどの物理的外傷の後に生じるフィブリン関連の癒着および／または癒痕組織の形成を防止および／または予防するうえで使用しうるものであることを見いだした。

我々は、また、トロンビン阻害物質が、疾患性炎症、たとえば、リウマチ疾

患、全身性炎症反応、自己免疫疾患のような医学的状態の結果として生じた炎症に起因するフィブリン関連の癒着および／または瘢痕組織の形成を防止および／または阻害するために使用できることも見いだした。

本発明の別の態様では、フィブリン関連の癒着および／または瘢痕組織の形成を防止または阻害する方法を提供するものであり、該方法は、そうした癒着の防止または阻害を必要としている患者への、トロンビン阻害物質の投与を行うことを含む。

外科手術または疾患性炎症の場合には、その外科手術または医学的状態が発症する前、後、または最中に、適宜「投与」を行うことができる。

トロンビン阻害物質は、トロンビン阻害物質を製剤学的に許容される剤形の製剤としたうえで、局所投与または全身投与することができる。局所または全身投与を行うにあたって用いることのできる剤形としては、たとえば Lachman ら(「Theory and Practice of Industrial Pharmacy (産業製剤の理論と実践)」、Lea & Febiger, 1986)に記載されているような当業者に周知の剤形がある。

「製剤学的に許容される剤形」とは、無菌状態であって、好ましくは発熱物質非含有の剤形のことを意味するものである。

特に、多糖とトロンビン阻害物質の同時投与を行うと、多糖単独投与の場合と比較して、フィブリン関連の癒着および／または瘢痕組織の形成が防止または阻害されることを見いだした。

したがって、本発明の別の態様では、フィブリン関連の癒着および／または瘢痕組織の形成を防止または阻害する方法を提供するものであり、該方法は、こうした防止または阻害を必要としている患者に、多糖とトロンビン阻害物質の同時投与を行うことを含む。

トロンビン阻害物質の多糖との同時投与は、局所投与でも全身投与でも可能である。また、同時投与にあたっては、トロンビン阻害物質と多糖とを別々に投与することもでき、すなわち、トロンビン阻害物質を多糖の前、後、同時に独立して投与することもできる。その際には、適当な手段、たとえば局所投与の場合には、トロンビン阻害物質の溶液を多糖製品を介して投与あるいは注入することが可能である。また、局所投与の場合には、トロンビン阻害物質を多糖に、適当

な手段、たとえば含浸または物理的／化学的結合によって固定しておくこともできる。

フィブリン関連の癒着および／または癒痕組織を防止または阻害する際に使用することのできる適当なトロンビン阻害物質としては、ヒルジンおよびヒルジン断片（すなわち、ヒルジンのカルボキシ末端のアミノ酸を端から少なくとも8個含むもの、たとえば、ヒルジンの既知配列のC末端のアミノ酸からなる断片）、ヒルジンの生合成類似物質（たとえば、アミノ酸10-12個以下のもの、市販されているものもある）、プロテインNAPc2、ならびに低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質がある。

トロンビン阻害物質として好適なのは、低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質である。「低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質」という用語が、1-4個のペプチド結合を有し、そして／または分子量が1000以下であるトロンビン阻害物質を含むものであり、また、Claesson による Blood Coagul. Fibrin. (1994)5, 411の総括論文、ならびに米国特許第 4,346,078 号、国際特許出願W093/11152、W095/23609、W095/35309、W096/25426、W094/29336、W093/18060 およびW095/01168、欧州特許出願第 648 780、468 231、559 046、641 779、185 390、526 877、542 525、195 212、362 002、364 344、530 167、293 881、686 642、669 317 および 601 459 号に記載されたトロンビン阻害物質を含むものであることは、当業者であれば十分理解できよう。

低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質としては、「ガトラン (gatrans)」として知られる一群の物質が好適である。具体的なガトランとしては、 $\text{H00C-C H}_2\text{-(R)Cha-Pic-Nag-H}$ （イノガトランとして公知、国際特許出願 W093/11152およびその明細書中の略称リストを参照のこと）、 $\text{H00C-CH}_2\text{-(R)Cgl-Aze-Pab-H}$ （メラガトランとして公知、国際特許出願 W094/29336 およびその明細書中の略称リストを参照のこと）が挙げられる。トロンビン阻害物質として特に好適なのは、メラガトランである。

フィブリン関連の癒着および／または癒痕組織の形成を防止または阻害するうえで適当なトロンビン阻害物質の用量は、使用するトロンビン阻害物質、治療対象の障害の重篤度、治療対象患者の性質、投与経路に依存する。適当な用量と

は、平均血漿濃度が、治療が必要とされる期間にわたって、 $0.001\sim 100\mu\text{モル/リットル}$ 、好ましくは $0.005\sim 20\mu\text{モル/リットル}$ 、特に $0.009\sim 15\mu\text{モル/リットル}$ の範囲となる用量である。イノガトランの用量として適当なのは、平均血漿濃度が $0.1\sim 10\mu\text{モル/リットル}$ 、好ましくは $0.5\sim 2\mu\text{モル/リットル}$ の範囲となる用量であり、メラガトランの用量として適当なのは、平均血漿濃度が $0.01\sim 5\mu\text{モル/リットル}$ 、好ましくは $0.1\sim 1\mu\text{モル/リットル}$ の範囲となる用量である。

出願人の知る限り、イノガトラン、メラガトランをはじめとするいずれの低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質についても、血小板の活性化および凝集、したがって、瘢痕組織の形成および結合組織の癒着に影響を及ぼすことはこれまで報告されていない。

本発明のさらに別の態様では、血小板の活性化および凝集を防止または低減するにあたっての、低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質の使用を提供するものである。

我々は、トロンビン阻害物質に加えて、またはトロンビン阻害物質のかわりに繊維素溶解性物質を適用した場合でも、フィブリン関連の癒着および／または瘢痕組織の形成が防止または阻害されることも見いだした。具体的には、トロンビン阻害物質に加えて、またはトロンビン阻害物質のかわりに繊維素溶解性物質を多糖と同時に投与した場合でも、フィブリン関連の癒着および／または瘢痕組織の形成が防止または阻害されることを見いだした。

使用が可能な繊維素溶解性物質の例としては、プラスミノゲンアクチベーター（tPA）、ストレプトキナーゼおよびウロキナーゼがある。

使用が可能な適当な多糖としては、創傷治癒過程を調節するうえで適当なもの、たとえば、後述の物理形状への製造が可能で、多糖を創傷に適用しうると当業者によって認められるものを挙げることができる。多糖の具体例としては、キトサン、ヒアルロナン、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、ケラタン硫酸、およびヘパラン硫酸を挙げることができる。多糖としては、キトサンが好適である。

多糖は、当業者に周知の各種技術によって、治療対象部位に応じた種々の物

理形状として製造することができる。物理形状の例としては、任意の寸法のフィルム、膜、ゲル、溶液、糸、棒、あるいはチューブを挙げることができる。しかし、多糖の形状として好適なのは、フィルム、膜またはゲルである。

本発明のさらに別の態様では、多糖と、低分子量ペプチド系トロンビン阻害物質とを含む医薬製品を提供する。

本明細書で定義する製品は、後述するように、フィブリン関連の癒着および／または癒痕組織の形成を有意に防止および／または阻害するという利点を有するものである。これらの製品は、また、従来の技術において公知の類似製品と比較して、効果が高い、副作用が少ない、あるいは製剤として有用なもっと別の特性を有するといった利点を有するものである。

本発明を、以下の実施例によって具体的に説明するが、本発明は、これらの実施例によって限定されるものではない。表1は、トロンビン阻害物質であるイノガトランを使用した、フィブリン関連の癒着の防止について例示するものである。

実施例

動物実験は、ゴーセンベルグ (Gothenberg) 大学動物実験倫理委員会より付与された倫理許可番号0 68/95、69/95および70/95にしたがって実施した。

実施例 1

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7 mm の領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させることによって損傷を誘導したところ、強固かつ広範な癒着が形成され、胃が、小腸、網、肝臓、場合によっては脾臓に連結され、強く固定された。

実施例 2

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7 mm の領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。その後、この領域を、緩衝食塩水で洗浄し、損傷領域より数 mm 径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルで覆った。その

結果、肝臓、小腸、網との間で生じる癒着の数ならびに寸法が低減するのが観察された。

実施例 3

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。その後、この領域を緩衝食塩水で洗浄し、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルで覆った。トロンビン阻害物質 $\text{HOOCH}_2-(\text{R})\text{Cgl-Aze-Pab-H}$ (メラガトラン、100~500 $\mu\text{g/ml}$ 、リン酸緩衝食塩水に溶解) 100 $\mu\text{リットル}$ を膜上に毎日滴下した。全ての場合において、その後2~5日にわたって、胃と肝臓、小腸、網との間に連結組織、すなわち肉芽組織でフィブリンストランドが置換されたことによる癒着は、全く形成されなかった。

実施例 4

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。その後、この領域を緩衝食塩水で洗浄し、浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約 220 μl 、ポンプ速度約 1 $\mu\text{l/h}$ 、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、メラガトランの2-100 $\mu\text{g/ml}$ 溶液をあらかじめ充填) を腹膜腔に埋設して、100 μl の溶液を約1週間にわたって送達した。全ての場合において、治療後10日以内の観察期間には、胃と肝臓、小腸、網との間で、フィブリン、血小板、他の血球の弱い接着がところどころに形成され、新たに形成された肉芽組織がわずかに癒着し、肉芽組織の大きな塊がところどころに散見されるのみであった。

実施例 5

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。その後、この領域を緩衝食塩水で洗浄し、浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約 220 μl 、ポンプ速度約 1 $\mu\text{l/h}$ 、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、トロンビン阻害物質であるメラガトランの2-100 $\mu\text{g/ml}$ 溶液をあらかじめ充填) を腹膜腔に埋設して、100 μl の溶液を約1週間にわたって送達し、ポンプの出口を、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルに接続した。10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例 6

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。その後、この領域を緩衝食塩水で洗浄し、浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約220 μ l、ポンプ速度約1 μ l/h、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、トロンビン阻害物質であるメラガトランの2-100 μ g/ml溶液をあらかじめ充填) を腹膜腔に埋設して、ポンプの出口は開いたままとし、その内容を腹腔に送達した。創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルで覆った。10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例 7

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。この領域を緩衝食塩水で洗浄した後、創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルで覆った。浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約220 μ l、ポンプ速度約1 μ l/h、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、トロンビン阻害物質であるメラガトランの2-100 μ g/ml溶液をあらかじめ充填) を皮下に埋設して、ポンプの出口は開いたままとし、その内容を隣接組織に送達した。14日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例 8

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。この領域を緩衝食塩水で洗浄した後、創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルで覆った。浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約220 μ l、ポンプ速度約1 μ l/h、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA) ; Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA) から購入したストレプトキナーゼ溶液をあらかじめ充填) を腹膜腔に埋設して、ポンプの出口は開いたままとし、キトサン膜表面に連結した。10日以内の観察期間中、胃

と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン-血小板網状構造も肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例 9

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。この領域を緩衝食塩水で洗浄した後、創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜、別の実験ではキトサンゲルで覆った。浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約220 μ l、ポンプ速度約1 μ l/h、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA) ; Sigma Chemical Co, (St. Louis, Mo, USA) から購入したストレプトキナーゼ溶液をあらかじめ充填) を腹腔に埋設して、ポンプの出口は開いたままとし、どこにも連結しなかった。10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も新たに形成された肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例 10

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。この領域を緩衝食塩水で洗浄した後、創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいキトサン膜で覆った。浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約220 μ l、ポンプ速度約1 μ l/h、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA) ; アクティライズ (Actilyse(登録商標)、組換えヒト組織プラスミノゲンアクチベーター、Boehringer Ingelheim) 溶液をあらかじめ充填) を腹腔に埋設して、ポンプの出口は開いたままとし、どこにも連結しなかった。10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も新たに形成された肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例 11

麻酔した成熟ラットの大腿を皮膚から筋組織にかけて切開し、所定面積 (約10 x 15mm) の筋膜を外科的に取り出した。創傷を縫合し、10日後に開いて検査したところ、数多くの癒着が認められ、損傷領域が肉芽組織によって隣接した筋肉、筋膜、血管、神経、ならびに皮膚に連結されているのが観察された。

実施例 12

麻酔した成熟ラットの大腿を皮膚から筋組織にかけて切開し、所定面積（約 10×15 mm）の筋膜を外科的に取り出した。筋膜を、キトサン膜、別の実験ではキトサングルで覆い、皮下に埋設しておいた浸透ミニポンプ（Alza 2001、容量約 $220 \mu\text{l}$ 、ポンプ速度約 $1 \mu\text{l/h}$ 、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、トロンビン阻害物質であるメラガトランの $0.2-100 \mu\text{g/ml}$ 溶液をあらかじめ充填）のチューブを連結した。次に、創傷を縫合し、10日後に開いて検査したところ、隣接する構造体との間に形成された癒着の程度ならびに寸法が著しく低減していた。上記実施例11に記載した非処置動物と比較すると、肉芽組織の範囲ならびに分布はほぼ正常であり、損傷領域が肉芽組織によって隣接した筋肉、筋膜、血管、神経、ならびに皮膚に連結されているということも、ほぼなかった。

実施例13

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。その後、この領域を緩衝食塩水で洗浄し、1台以上の浸透ミニポンプ（Alza 2001、容量約 $220 \mu\text{l}$ 、ポンプ速度約 $1 \mu\text{l/h}$ 、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、あるいは Alza 2ML1、容量約 $2000 \mu\text{l}$ 、ポンプ速度約 $10 \mu\text{l/h}$ 、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)、トロンビン阻害物質であるイノガトランの $65.86 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 溶液をあらかじめ充填）を腹膜腔に1週間埋設し、ポンプの出口を、腹膜腔中の損傷領域に隣接して、連結せずに載置した。血漿濃度を $0.5 \mu\text{mol/l}$ 以上とした場合、10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も肉芽組織のストランドも検出さ

れなかった（表1）。従って、癒着形成は、用量-応答相関的に防止された。

実施例14

麻酔した成熟ラットの胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。この領域を緩衝食塩水で洗浄した後、創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいヒアルロナンまたはキトサン膜で覆った。浸透ミニポンプ（Alza 2001、容量約 $220 \mu\text{l}$ 、ポンプ速度約 $1 \mu\text{l/h}$ 、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA)；Sigma Chemical Co, (St. Louis, Mo, USA)から購入したトロンビン阻害物質であるヒルジン溶液をあらかじめ充填）1台/動物1匹を腹膜

腔に1週間埋設した。ポンプの出田ま、腹膜腔中で、損傷領域ならびに損傷領域を覆っている多糖膜に隣接するよう載置した。10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も肉芽組織のストランドも検出されなかった。

実施例15

麻酔した成熟ラット6匹の胃の漿膜表面の直径7mmの領域を、80%酢酸に60秒にわたって接触させた。この領域を緩衝食塩水で洗浄した後、創傷領域を、損傷領域より数mm径が大きいヒアルロナンまたはキトサン膜で覆った。浸透ミニポンプ (Alza 2001、容量約220 μ l、ポンプ速度約1 μ l/h、Alza Corp. (Palo Alto, CA, USA) ; Sigma Chemical Co, (St. Louis, Mo, USA)から購入したヒルジン断片 (ヒルジンの既知配列のC末端側配列からなる断片) 溶液をあらかじめ充填) を腹膜腔に1週間埋設し、ポンプの出口は、腹膜腔中で、損傷領域ならびに損傷領域を覆っている多糖膜に隣接するよう載置した。いずれの動物についても、10日以内の観察期間中、胃と肝臓、小腸、網との間には、フィブリン網状構造も肉芽組織のストランドも検出されなかった。

表1 イノガトランについての結果

ラット 番号/ 分析日	ラット 重量	注入 速度	用量	用量	血漿 濃度	癒着	平均血漿 濃度
	g	$\mu\text{L/h}$	$\mu\text{g/h}$	$\mu\text{g/kg/h}$	$\mu\text{mol/L}$	スコア	$\mu\text{mol/L}$
163/1	532	1*1	66	124	0.58		
2					0.30		
7					0.17	3	
163/1	466	1*1	66	142	0.61		
2					0.14		
7					0.19	4	0.18
163/1	491	2*1	132	269	0.47		
2					0.35		
7					0.24	2	
164/1	532	2*1	132	248	0.46		
2					0.79		
7					0.37	2	0.31
165/1	449	4*1	264	588	1.27		
2					0.47		
7					0.57	0	
166/1	473	4*1	264	558	0.81		
2					0.89		
7					0.87	1	0.72
169/1	496	1*10	658	1327	2.52		
2					2.11		
7		弱い出血傾向			1.88	0	
171/1	487	1*10	658	1351	1.13		
2					4.23		
7		弱い出血傾向			1.79	0	1.84
170/1	477	2*10	1317	2761	4.44		
2					2.82		
7		広汎性出血、 赤血球比の低減			5.56	0	

全ての事例において、溶液中のイノガトラン濃度は、 $65.85 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ とした。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 97/00057

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER				
IPC6: A61K 31/725, A61K 38/00, A61L 31/00, A61L 33/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)				
IPC6: A61K				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
SE,DK,FI,NO classes as above				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X	EP 0051354 A2 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY), 12 May 1982 (12.05.82) --	1-4,6,7		
X	EP 0426368 A2 (PFIZER HOSPITAL PRODUCTS GROUP, INC.), 8 May 1991 (08.05.91) --	1-4,13-15		
A	WO 9115233 A1 (INVITRON CORPORATION), 17 October 1991 (17.10.91) --	1-15,31-37		
A	US 5209776 A (LAWRENCE S. BASS ET AL), 11 May 1993 (11.05.93) --	1-15,31-37		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report		
17 April 1997		26 -04- 1997		
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86		Authorized officer Eva Johansson Telephone No. +46 8 782 25 00		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 97/00057

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4532134 A (WILLIAM G. MALETTE ET AL), 30 July 1985 (30.07.85) --	1-15, 31-37
A	US 5116824 A (TERUO NIYATA ET AL), 26 May 1992 (26.05.92) --	1-15, 31-37
A	WO 9312801 A1 (REINMÖLLER, JOHANNES), 8 July 1993 (08.07.93) -- -----	1-15, 31-37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 97/00057

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 16-30
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
See PCT Rule 39.1(iv): Methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(e).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

04/03/97

International application No.

PCT/SE 97/00057

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0051354 A2	12/05/82	SE 0051354 T3 AU 543926 B AU 7600981 A CA 1148468 A JP 1045373 B JP 1559151 C JP 57089868 A US 4326532 A	09/05/85 22/04/82 21/06/83 03/10/89 16/05/90 04/06/82 27/04/82
EP 0426368 A2	08/05/91	SE 0426368 T3 AT 116555 T AU 612085 A,B CA 2028709 A DE 69015775 D,T ES 2066152 T IE 64988 B JP 3167201 A JP 7090041 B US 5093319 A	15/01/95 27/06/91 01/05/91 11/05/95 01/03/95 20/09/95 19/07/91 04/10/95 03/03/92
WO 9115233 A1	17/10/91	AU 647120 B AU 7680391 A CA 2079783 A EP 0556178 A US 5112608 A US 5196196 A US 5206017 A US 5326562 A	17/03/94 30/10/91 06/10/91 25/08/93 12/05/92 23/03/93 27/04/93 05/07/94
US 5209776 A	11/05/93	AU 8497991 A CA 2087957 A EP 0542880 A JP 6507376 T US 5292362 A WO 9202238 A	02/03/92 28/01/92 26/05/93 25/08/94 08/03/94 20/02/92
US 4532134 A	30/07/85	CA 1222698 A DE 3321446 A,C GB 2129300 A,B JP 5004369 B JP 59088424 A US 4452785 A US 4605623 A CA 1199275 A GB 2095995 A,B US 4394373 A	09/06/87 10/05/84 16/05/84 19/01/93 22/05/84 05/06/84 12/08/86 14/01/86 13/10/82 19/07/83

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

04/03/97

International application No.

PCT/SE 97/00057

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5116824 A	26/05/92	DE 3688805 A,T	09/09/93
		EP 0200574 A,B	05/11/86
		SE 0200574 T3	
		JP 1507636 C	26/07/89
		JP 61253065 A	10/11/86
		JP 63059706 B	21/11/88
WO 9312801 A1	08/07/93	DE 4200080 A	30/09/93
		EP 0619737 A	19/10/94

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	ターマコード (参考)
A 6 1 K 38/46 45/00		A 6 1 K 37/52 37/54	
(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF , CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, S Z, UG), UA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD , RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ , BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, G E, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR , KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, P L, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK , TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN			